

本文引用:孙秀丽. 川崎病急性期患儿外周血 T 淋巴细胞亚群变化[J]. 新乡医学院学报,2017,34(10):940-942. DOI:10.7683/xyxyxb.2017.10.019.

【临床研究】

川崎病急性期患儿外周血 T 淋巴细胞亚群变化

孙秀丽
(商丘市第一人民医院儿科,河南 商丘 476000)

摘要: **目的** 观察川崎病急性期患儿外周血 T 淋巴细胞亚群的变化,探讨其可能的免疫机制。**方法** 选取 2014 年 3 月至 2015 年 8 月在商丘市第一人民医院接受治疗的 46 例川崎病急性期患儿为研究组,另选取同期体检健康儿童 10 例为对照组。采集 2 组患儿外周血,采用流式细胞术检测 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD56⁺CD16⁺)变化情况并进行比较。**结果** 研究组患儿 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞分别为(56.36 ± 4.78)%、(28.14 ± 1.55)%、(21.03 ± 2.36)%,均显著低于对照组的(65.25 ± 5.63)%、(33.12 ± 2.57)%、(28.52 ± 3.12)% ($P < 0.05$);研究组患儿 CD4⁺/CD8⁺、CD19⁺ 细胞分别为 2.51 ± 0.36、(31.85 ± 3.21)%,显著高于对照组的 1.51 ± 0.37、(18.61 ± 2.57)% ($P < 0.05$);研究组患儿 CD56⁺CD16⁺ 细胞与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 川崎病急性期患儿体内存在免疫紊乱,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞降低与 CD4⁺/CD8⁺、CD19⁺ 细胞上升可能与本病的发生有关。

关键词: 川崎病;急性期;外周血 T 淋巴细胞亚群

中图分类号: R714.252 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2017)10-0940-03

Changes of peripheral blood T lymphocyte subsets in the acute stage of Kawasaki disease

SUN Xiu-li
(Department of Pediatrics, the First People's Hospital of Shangqiu City, Shangqiu 476000, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To observe the changes of peripheral blood T lymphocyte subsets of children with Kawasaki disease (KD) in acute phase, and to investigate the possible immune mechanism of KD. **Methods** Forty-six KD children in acute phase in the First People's Hospital of Shangqiu City from March 2014 to August 2015 were selected as research group; and 10 healthy children at the same period were selected as control group. The peripheral blood of children in the two groups were collected. The levels of T lymphocyte subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD56⁺CD16⁺) were assessed by flow cytometry and then compared between the two groups. **Results** The CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ cells of children in research group were (56.36 ± 4.78)%, (28.14 ± 1.55)%, (21.03 ± 2.36)% respectively, in control group were (65.25 ± 5.63)%, (33.12 ± 2.57)%, (28.52 ± 3.12)% respectively; the CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ cells of children in research group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). The CD4⁺/CD8⁺ ratio and CD19⁺ cell of children in research group were 2.51 ± 0.36, (31.85 ± 3.21)% respectively, in control group were 1.51 ± 0.37, (18.61 ± 2.57)% respectively; the CD4⁺/CD8⁺ ratio and CD19⁺ cell of children in research group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the CD56⁺CD16⁺ cells between research group and control group ($P > 0.05$). **Conclusion** The acute phase KD children exists obvious immunological disorder. The decrease of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ cells and the increase of CD4⁺/CD8⁺ ratio, CD19⁺ cell may be relate with the occurrence of KD.

Key words: Kawasaki disease; acute phase; peripheral blood T lymphocyte subsets

川崎病又称皮肤黏膜淋巴结综合征,是一种临床比较常见的一种血管炎综合征,具有较高发病率,多发于 5 岁以下婴幼儿,可引起冠状动脉瘤、冠状动脉炎、冠状动脉狭窄等冠状动脉损害,严重者出现心肌梗死,是造成婴幼儿死亡的重要原因之一,给家庭

及社会带来沉重的负担^[1-2]。目前,临床对于川崎病的发病机制尚未完全清楚,大部分学者认为与抗原引起的 T 细胞异常活化、血管内皮功能障碍等密切相关^[3]。相关研究表明,由外周血 T 淋巴细胞亚群介导的免疫应答机制在川崎病的发生、发展中具有一定作用^[4]。因此,本研究对川崎病急性期患儿外周血 T 淋巴细胞亚群进行检测,旨在探讨川崎病的发病机制,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 3 月至 2015 年 8 月在商丘市第一人民医院接受治疗的 46 例初诊川崎病急性期患儿为研究组,均符合 2004 年美国心脏病协会修订的川崎病急性期诊断标准^[5]:(1)持续性发热时间 >5 d。(2)至少具备以下症状、体征中的 4 项:草莓舌、口唇皸裂、红斑,或咽部及口腔黏膜表现为弥漫性充血;双侧球结膜充血;多形性红斑;颈部淋巴结肿大(一般为单侧,直径 >1.5 cm);手足水肿,手掌、足底红斑。临床排除应用丙种球蛋白、激素或其他影响免疫功能药物的患儿。46 例患儿中男 25 例,女 21 例;年龄 6 ~ 72 个月,平均(36.58 ± 2.56)个月;病程 5 ~ 10 d,平均(6.35 ± 1.46)d;体温 39 ~ 40 ℃,平均(39.68 ± 0.25)℃。另选取同期体检健康儿童 10 例为对照组,其中男 6 例,女 4 例;年龄 7 ~ 70 个月,平均(39.74 ± 2.58)个月。2 组受试儿性别、年龄比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究通过医院伦理委员会批准,患儿及家属对本研究知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 主要仪器及试剂 Analyser 型流式细胞仪购自德国 Partec 公司;T 淋巴细胞亚群分析试剂盒由上海研卉生物科技有限公司提供;BD FACSCount Instrument T 淋巴细胞计数仪购自碧迪医疗器械(上海)有限公司。

1.2.2 标本采集 研究对象均在未接受任何治疗前采集清晨空腹静脉血 4 mL,分离单个核细胞,上清液采用流式细胞仪检测。

1.2.3 检测方法 加入 5 mL 无菌生理盐水稀释抗

表 1 2 组受试儿 T 淋巴细胞亚群比较

Tab. 1 Comparison of peripheral blood T lymphocyte subsets of children between the two groups							($\bar{x} \pm s$)
组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ / %	CD4 ⁺ / %	CD19 ⁺ / %	CD4 ⁺ / CD8 ⁺	CD8 ⁺ / %	CD56 ⁺ CD16 ⁺ / %
对照组	10	65.27 ± 8.05	33.37 ± 8.58	18.50 ± 3.99	1.51 ± 0.37	28.37 ± 3.83	10.51 ± 2.28
研究组	46	55.63 ± 7.07	28.35 ± 9.09	31.39 ± 4.95	2.51 ± 0.36	21.05 ± 4.57	10.85 ± 2.30
<i>t</i>		7.319	3.230	51.855	102.956	32.362	1.374
<i>P</i>		0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.176

3 讨论

近年来,我国川崎病发病率不断上升,已经成为最常见的小儿后天性缺血性心脏病。急性血管炎是川崎病的主要病理变化,多累及小、中动脉,也可导致多种非血组织及器官的炎性改变^[6-7]。由于临床对于川崎病的发病机制尚未完全明了,导致本病的诊断、患儿的治疗及预后均存在一定困扰^[8]。因此,阐明川崎病的发病机制对于本病的诊断及防治

凝血及淋巴细胞分离液,以 2 : 1 把稀释血液悬浮于淋巴细胞分离液上,离心后进行分层,其中中层与上层分界面为白膜层(含有大量单个核细胞),RPMI (roswell park memorial institute)-1640 培养液(含体积分数 10% 灭活胎牛血清)混匀,离心后弃上清液。加培养液混匀,调整细胞悬液浓度,培养 1 ~ 2 h,将未贴壁的细胞取出并置于其余培养孔内,加入植物血凝素培养 72 h。应用流式细胞仪对 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD4⁺ / CD8⁺、CD56⁺ CD16⁺)进行检测,采用 BD FACSCount Instrument T 淋巴细胞计数仪测量淋巴细胞计数及淋巴细胞比例。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 18.0 软件进行数据分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组受试儿淋巴细胞计数比较 研究组患儿淋巴细胞计数为(3.59 ± 0.62) × 10⁹ L⁻¹,淋巴细胞比例为(26.65 ± 7.04)%,对照组受试儿淋巴细胞计数为(3.65 ± 0.61) × 10⁹ L⁻¹,淋巴细胞比例为(26.43 ± 7.75)%,2 组受试儿淋巴细胞计数及淋巴细胞比例比较差异均无统计学意义($t = 0.827$ 、 1.701 , $P > 0.05$)。

2.2 2 组受试儿 T 淋巴细胞亚群比较 结果见表 1。研究组患儿 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞较对照组显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);CD4⁺ / CD8⁺、CD19⁺ 细胞较对照组显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);2 组受试儿 CD56⁺ CD16⁺ 细胞比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

具有重要意义。

虽然目前临床对于川崎病的发病机制尚未阐明,但研究显示,淋巴细胞感染与本病的发生、发展密切相关^[9]。淋巴细胞是机体免疫系统功能中作用较大的细胞群,正常状态下,淋巴细胞亚群的数量维持在一定范围,若发生异常变化时,会导致机体出现免疫紊乱,产生一系列的病理变化^[10]。根据细胞表面分化抗原的不同,可将 T 淋巴细胞分为 CD4⁺ 和 CD8⁺ 亚群,而 CD4⁺ T 细胞又可以分为 2 个亚

群,即 Th1 亚群和 Th2 亚群,具有抗炎症介质及杀伤炎症细胞毒的作用,CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的平衡可对机体的免疫稳态进行维持^[11]。本研究中,研究组患儿 CD4⁺/CD8⁺ 较对照组显著升高。闵锋等^[12] 研究结果显示,川崎病急性期患儿的 CD4⁺/CD8⁺ 为 2.45 ± 0.38,明显高于健康体检儿童的 1.62 ± 0.55,与本研究结果基本一致。提示川崎病患儿体内免疫调节失衡,导致免疫损伤,因此,认为 T 淋巴细胞免疫调节失衡在本病的发生、发展中具有重要作用。在本研究中,川崎病急性期患儿 CD8⁺ 细胞较健康体检儿童低。分析原因可能为:(1)CD8⁺ 细胞作为具有免疫抑制效应细胞,其水平的降低会过度激活免疫系统,增高 CD4⁺/CD8⁺,加剧免疫调节的失衡,造成一定程度的免疫损伤^[13]; (2)可能与 CD8⁺ 细胞在川崎病急性期患儿的血管壁进行浸润有关^[14]。目前,临床常采用丙种球蛋白对川崎病急性期患儿进行治疗,疗效显著。分析其作用机制可能与降低淋巴细胞比例、延缓凋亡时间有关。CD19⁺ 抗原是 B 淋巴细胞的一种特异性标志,B 淋巴细胞分化为浆细胞后,可分泌出大量的免疫球蛋白,从而对体液免疫进行介导。本研究结果显示,川崎病患儿 CD19⁺ 细胞较健康体检儿童高,提示 CD19⁺ 细胞参与了川崎病的发病过程。分析原因为川崎病患儿体内的异常免疫反应,产生大量的 B 细胞并向其他组织进行迁移,从而分化出大量的 IgA 浆细胞。此外,栗枫筠^[15] 研究表明,急性期患儿血液中免疫球蛋白水平上升,这进一步证实了 CD19⁺ 细胞参与了川崎病的发病过程。CD56⁺ CD16⁺ 细胞是自然杀伤 (natural killer,NK) 细胞的主要标志物,NK 细胞是机体重要的免疫细胞,不仅参与免疫调节、抗病毒感染及抗肿瘤等,而且在某些情况下还参与了自身免疫性疾病的发生及超敏反应^[16-17]。本研究结果显示,研究组患儿 CD56⁺ CD16⁺ 细胞与对照组比较差异无统计学意义。分析原因可能为川崎病多发于 5 岁以下婴幼儿,其相关细胞水平波动较大有关,也有可能与本研究样本量较少有关。

综上所述,川崎病急性期患儿体内存在明显免疫学紊乱,而 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞降低与 CD4⁺/CD8⁺、CD19⁺ 细胞上升可能与本病的发生有关,对于临床诊断及防治具有重要价值。

参考文献:

[1] 刘芳,赵璐,吴琳,等. 基于严重程度临床分级的川崎病冠状动脉病变的治疗和管理评价[J]. 中华儿科杂志,2015,53(9): 690-695.

[2] 赵春娜,杜忠东,高灵灵. 川崎病儿童冠状动脉病变危险因素分析[J]. 中华实用儿科临床杂志,2016,31(9):659-661.

[3] 吴守振,张晓燕,周南,等. 川崎病患者 CD4⁺ T 细胞中血清和糖皮质激素诱导的激酶 1(SGK1)表达上调且与 RORC 及 IL-17A 正相关[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2015,31(10):1378-1382.

[4] 段焱,林智平,刘青,等. CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 淋巴细胞与辅助性 T 淋巴细胞 17 在川崎病发病机制中的作用[J]. 中华实用儿科临床杂志,2017,32(9):652-655.

[5] SEHGAL S, CHEN X G, ANG J Y, et al. Epidemiology, clinical presentation, and outcomes of kawasaki disease among hospitalized children in an inner city hospital before and after publication of the American Academy of Pediatrics/American Heart Association Guidelines for treatment of Kawasaki disease: an 11-year period [J]. *Clin Pediatr*, 2012, 54(13):1283-1289.

[6] PUHAKKA L, SAAT R, KLOCKARS T, et al. Retropharyngeal involvement in Kawasaki disease: a report of four patients with retropharyngeal edema verified by magnetic resonance imaging [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2014, 78(10):1774-1778.

[7] 狄亚珍,吴菱,钟世玲,等. 血 N 末端脑利钠肽原及高密度脂蛋白胆固醇对川崎病心血管损害预测价值的研究[J]. 中华风湿病学杂志,2014,18(3):170-175.

[8] 沈方方,章爱莲,朱雯,等. 川崎病免疫功能和炎症因子检测及临床意义[J]. 中国妇幼健康研究,2015,26(4):1201-1203.

[9] 郭红梅,韩彦彦. 川崎病病因及其发病机制研究进展[J]. 医学综述,2015,21(23):4260-4263.

[10] 黄可. 手足口病并发脑炎患儿 T 淋巴细胞亚群的变化[J], 新乡医学院学报,2015,32(8):766-767.

[11] 蒋勇,赵梦,李维禧,等. 初始剂量静脉用丙种球蛋白治疗无反应川崎病的临床特征和预测指标[J]. 中华实用儿科临床杂志,2015,30(9):676-680.

[12] 闵锋,朱少元,李娇春,等. 两种剂量丙种免疫球蛋白对川崎病患儿冠状动脉病变及血清基质金属蛋白酶含量影响的比较[J]. 东南大学学报(医学版),2015,34(6):942-945.

[13] 符敏,吴伟,陆晓和,等. 实验性自身免疫性葡萄膜炎 T 淋巴细胞亚群与 Treg 细胞的表达研究[J]. 眼科新进展,2016,36(3):227-230.

[14] AOYAGI R, HAMADA H, SATO Y, et al. Study protocol for a phase III multicentre, randomised, open-label, blinded-end point trial to evaluate the efficacy and safety of immunoglobulin plus cyclosporin A in patients with severe Kawasaki disease (KAICA Trial) [J]. *BMJ Open*, 2015, 5(12):e009562.

[15] 栗枫筠. 小儿川崎病病因及发病机制研究现状[J]. 武警后勤学院学报(医学版),2016,25(9):773-777.

[16] WAKIGUCHI H, HASEGAWA S, SUZUKI Y, et al. Relationship between T-cell HLA-DR expression and intravenous immunoglobulin treatment response in Kawasaki disease [J]. *Pediatr Res*, 2015, 77(4):536-540.

[17] 江彦秋,黄先玫. 川崎病的免疫与遗传学发病机制研究进展[J]. 中华实用儿科临床杂志,2017,32(9):717-720.

(本文编辑:徐刚珍 英文编辑:孟 月)